改良式水稻雜交法 [1]

鄧耀宗、許東暉 [2]

水稻雜交技術爲改良水稻品種重要技術之一，早在1901年日本 Hoshino 即已使用剪穎法進行水稻的人工雜交。剪穎法的主要缺點是剪去內、外穎之一部份，使米粒的一部份暴露於外，於播種時容易引起病害，而使雜交種子的成活率降低。爲了避免使內外穎剪傷，印度 Sharngapani (1924) 改用人爲鑷開兩穎法，即在水稻自然開花之前約兩小時，用手輕輕的將內外穎拉開，用鑷子除去雄蕊，兩小時後普通稻花開放時，將已去雄的小花授粉，然後將內外穎合上，並用細絲線將該小花綑起來即行。這種方法手續太繁，雜交成功率亦因內外穎拉開時受傷而低減，故應用者少。另外 Ramiah (1929) 發現以人爲的方法增加溫度，可以促進水稻開花。他以黑色紙袋套在母本的穗上，藉黑色吸收陽光的熱能促進開花，而在花粉未成熟之前完成去雄工作。此法在溫度太高或太低的情況下效果可能不理想。1933年 Stephens 等以溫湯去雄法 (Hot water method) 處理高粱成功後，Jodon 於1936年開始研究溫湯去雄法應用於水稻的可能性。1938年氏終於成功的發表了他的溫湯去雄法。他發現水溫在44°C 以上將使稻花組織受到傷害，在 40°C 到 44°C 之間處理10分鐘將殺死花粉而不傷害到其他器官。這種方法可使水稻行大量去雄工作。1940年臺灣農業試驗所的加茂氏另創暗室去雄法，即在稻花正常開放前 2 小時，將選定的母本移入暗室，等其開花後用鑷子將雄蕊除去而完成去雄工作。此法因受天氣影響頗大，不太容易控制，如移入的時間過早，沒有促進開花的作用；如移入太遲，則開花時粉囊已裂開，易發生自花授精。渡邊忠夫 (1951) 乃綜合 Jodon 與加茂的方法而創溫湯暗室並用法，即母本應用 Jodon 的溫湯去雄法去雄，父本應用暗室法促進其開花，並首先採用集體授粉法，此法的雜交成功率爲46%～100%。

爲了特殊研究目的，想獲得大量的雜交第一代種子，則上述方法有待更進一步的改進。國際稻米研究所於1963年以改良式剪穎法從事大量雜交工作，即於雜交前一天下午先行剪穎，緊接着再剪去雄蕊；或於雜交當天上午正常開花前剪去雄蕊，於正常花開放時將父穗的花粉振落於母穗上（或稱集體授粉）。結果雜交結實率爲 27.31%～49.77%，平均爲38.63%。此法把去雄與授粉分兩天進行，因此可以雜交較多的小花；但小花是否將於第二天開放？雜交當天去雄如太遲將有自花授粉之慮，其自花授精爲 5 %。因此該所於1964年將去雄工作限於雜交前一天完成，即剪穎後用鑷子除去雄蕊，結果其雜交結實率爲43%，而自花授精率降爲0.4%。

農試所爲了研究水稻雜種優勢及回交育種，每年均需雜交大量的小花。雜交大致採用渡邊忠夫的方法，但母本經溫湯處理後僅能保持約 1 小時的開放狀態，之後內外穎就閉合。換言之，花粉必須在此時間內成熟，否則無法進行授粉工作。爲解決此問題，先後就延遲內外穎的閉合，促進父穗開花，促進父穗花粉成熟，以及如何保存父穗的花粉等問題進行探討。其中以延遲內外穎閉合最爲困難，因而以剪穎法配合之。本報告即以此方法所得結果與一般方法比較，供稻作同好者參考。

試驗材料與方法

供試材料主要是以嘉南 8 號與臺南 5 號兩水稻品種爲輪迴親，用回交育種法以育成抗稻熱病品種，所用之材料，包括 $BC_6$5—4—12、$BC_6$5—4—17、$BC_6$5—4—22、$BC_6$5—4—23、$BC_6$8—6—12、$BC_6$8—6—13、$BC_6$8—6—16、$BC_6$8—6—17、$BC_6$8—6—22、$BC_6$8—6—23 等10組合。另外有光復

本文曾於民國61年度中華農學會年會宣讀。

1.試驗報告農試字第五九三號。 2.臺灣省農業試驗所技士、技佐。

401號、臺農38號、臺中65號、臺東16號、TKM6、Nato、PI279120 等品種。

試驗材料爲求父母本能配合得上，通常要分三次播種、移植。在第一期作應相隔10～15天，第二期作以相隔一星期播種一次爲宜。移植時應行單本植。在生育期間嚴格執行去雜工作，並記載其主要的農藝特性。及至抽穗期，選好母本，於雜交前一天下午將母本移入網室，並植於盆缽中，加水並噴水滴於稻葉上，如遇强風應移入玻璃室內，以防水份過量蒸散而使稻穗枯萎。於稻花正常開放前一小時開始溫湯去雄，即將稻穗傾斜於 43°C 的溫水中 7 分鐘 ， 然後將稻株移回盆缽中 ，並置於暗室內約 10 分鐘。此時小花已開，打開暗室內的燈光，剪除不開的小花，再以紙袋套上，即完成去雄的工作。

於稻花正常開放前半小時，可將父穗採回，置於有水的瓶中，放入恆溫箱內 ， 溫度調節到 30～35°C ，恆溫箱內並保持黑暗狀態。 若室外的相對濕度低，因花粉容易散開，恆溫箱可以放些水。若室外的相對濕度高，則恆溫箱的溫度要稍微提高一點（35°C 左右）。父穗的花藥吐出內外穎後，可用鑷子輕振花藥，以檢查花粉是否已可散開。若輕輕一搖花粉就散開，即可進行人工授粉的工作。

母本整穗後，而父穗的花粉亦可授粉時，若母本的小花之內外穎尚爲開放狀態，則將父穗輕舉於母穗之上，輕輕的搖振，花粉即可散落在母穗的柱頭上，而完成人工授粉的工作。若在人工授粉之前，稻花的內外穎已閉合，則可用剪刀很快的在穎花的頂端¼～⅕處剪掉，呈開口狀，再將花粉撒落於母穗的柱頭上。人工授粉完成後，套上紙袋，並掛紙牌，即完成人工雜交工作。

試驗結果與討論

一般品種改良用的水稻雜交，每組合能有10～20粒的 F_1 種子，已足夠應用。而欲獲得少量的雜種第一代，則任何雜交技術都可以應付。若採回交育種法，或其他特殊目的，需要大量的雜種第一代時，則文獻上的各種雜交技術，都尙難應用自如。Jodon 的溫湯去雄法使大量小花的去雄工作簡化了許多，而渡邊忠夫的授粉法（集體授粉法）使大量小花的授粉工作成爲可能。但是集體授粉法（Mass Pollination）必須於小花的內外穎閉合以前進行，否則小花不能結實。因此，大規模的水稻雜交工作，其困難不在去雄，也不是授粉，而是如何配合父母本開花的時間。在自然狀況下，小花的開啓與花粉的散落配合得很好。但母本的去雄工作必須在小花正常開放之前進行，以避免自花授精；父穗的採集亦需於開花前進行，以免花粉散落。加以品種、氣候環境上的差異，常常在母本小花閉合之前，父穗的花藥尙不裂開；偶而母本在未完成整穗之前，父穗的花粉已散落，使雜交的工作不能順利進行。爲克服這些困難，首先將整穗後的母本噴水，然後用大型的塑膠袋套起來，期能延遲其閉穎的時間。試驗效果不很明顯。繼而試以人爲方法控制父穗的花粉，用暗室法處理父穗，以促進其開花，效果很明顯。據加茂的解釋，主要是光線的突然減少所致，因此在陰雨天暗室處理效果較差。暗室處理法雖可促進開花，但花藥並不同時裂散花粉，在這情況下，花藥的裂散受採集時間、溫度、濕度等因素所影響。採父穗的時間距自然開花時間愈早，花藥愈不易裂散。相對濕度低時，花粉較易散落；相反的，相對濕度高時，花粉可以保持久一點。

農試所一般水稻雜交係以溫湯法去雄，然後行小花個別授粉，雜交結實率約在60%左右（表 1），但無經驗的技術員，可能易使水稻小花受傷，其雜交成功率僅20～30%而已。如於溫湯去雄之後，改用集體授粉法，則其雜交成功率約在43%左右（表 2）。改用集體授粉的時候，雖曾利用上述各種方法來調節開花及花粉，但在天氣不良的情況下，效果並不理想。因此，父、母本配合得好時，雜交結實率有高達96%者，但在配合不好的情況下，雜交成功率有低至 0%者。表示此法受環境因子的影響很大，雜交結實率很不穩定。

雜交工作因受水稻開花期的限制，雖天氣不良，有時亦得進行人工雜交。爲了解決這一問題，將母本按一般法處理，父穗於正常開花前採回，置於恆溫箱內，溫度調節到 30°C 左右。若室外相對濕度很高，恆溫箱內應保持乾燥，使花粉容易散落；相反的，若室外很乾燥，恆溫箱內應加水，便於

花粉的保存。有時候發現父穗的花藥成熟時，母本的小花已閉合，仍將已閉合的小花尖端剪一小洞，長約小花全長的⅕，以便授粉。表 3 顯示改良法的雜交結實率平均高達75%。在民國61年 6 月24日以嘉南 8 號與 C_8—6—16 雜交結果，最高結實率達 96%，與渡邊法之最高結實率相似，表示小花閉穎後剪一小洞，花粉可經由該小洞散落在小花的柱頭上，而不影響其結實。此外，改良法的最低結實率達50%，比國際稻米研究所的平均結實率爲高。表示改良式剪穎法於剪穎時很難判斷小花是否已經成熟，因而雜交結實率較低；但本改良法採溫湯法去雄，便沒有此項缺點。從本改良法之雜交結實率的變異範圍觀之，其雜交結實率是相當穩定的。

爲進一步了解改良法的效果，於民國61年 6 月19日、20日、24日等三天，以同一父、母本與渡邊法進行比較試驗。表 4 顯示改良法的平均結實率均比渡邊法爲高。在雜交結實率高時，如 6 月20日的雜交結果，渡邊法尙有26%的紀錄，可見渡邊法對雜交結實率的穩定性較差。在雜交結實率較差時，如 6 月19日與24日，渡邊法且有低至 0%的雜交結實率，改良法却能保持50%以上的雜交結實率。由此可見，在不同環境下，改良法均優於渡邊法。

從以上結果可知，水稻大量雜交工作可以溫湯法去雄，以集體授粉法授粉，其最大的困難是如何配合父、母親本的開花時間。往往於花粉準備好時，母本的小花已有閉穎的現象，此時若以剪穎法處理則可以把問題解決。這種改良式水稻雜交法的雜交結實率，比國際稻米研究所使用的剪穎法約提高了30%左右；又因係溫湯法去雄，無自花授粉之慮。若與渡邊忠夫的水稻交配法比較，改良式水稻雜交法較富彈性，即父、母本配合得上時，可以直接採用集體授粉法；父、母本開花時間配合不上時，可以立刻進行剪穎，以資補救，因而雜交結實率較穩定，並可延長雜交工作時間。若與一般小花個別授粉法比較，一方面可以提高其雜交結實率，另一方面則可提高工作效率。但是以剪穎法處理後的 F_1 種子，米粒比正常者爲細長，播種時較易感染腐敗病，所以 F_1 秧苗應細心培養。

表 1. 水稻溫湯去雄後小花個別授粉之結實率

Table 1. General pollination of rice emasculated by hot water

雜交日期 Date	親本名稱 Name of parents 母本 Female	父本 Male	授粉小花數 No. of pollinated florets	結實粒數 No. of grains obtained	結實率* Seed set (%)
61.6. 8	# 3	臺中65號	57	38	67
61.6. 8	# 8	光復401號	88	60	68
61.6. 8	# 8	光復401號	18	8	44
61.6. 9	# 3	臺中65號	71	64	90
61.6. 9	# 9	臺農38號	18	14	78
61.6.15	# 9	臺農38號	84	54	64
61.6.15	# 9	臺農38號	87	59	68
61.6.15	# 9	臺農38號	29	8	28**
61.6.15	臺東16號	TKM—6	89	14	16
61.6.16	# 2	Nato	145	94	65

* 平均結實率爲60.2%。 Average pencentage of seed set was 60.2%

** 係新進技術員所授粉。 The florets were pollinated by an unskilled technician.

表 2. 渡邊忠夫水稻雜交法之結實率

Table 2. Artificial hybridization by Watanabe's method

雜交日期 Date	親本名稱 Name of parents 母本 Female	父本 Male	授粉小花數 No. of pollinated florets	結實粒數 No. of grains obtained	結實率 % of seed set 範圍 Range	平均 Mean
61.6.23	臺南5號	C_5—4—12	309	139	25.0—70.9	41.8
61.6.23	臺南5號	C_5—4—17	109	31	25.6—37.0	31.3
61.6.24	臺南5號	C_5—4—22	229	111	41.7—62.1	49.2
61.6.24	臺南5號	C_5—4—22	493	245	40.2—61.1	49.7
61.6.19	嘉南8號	C_8—6—13	390	86	0—49.4	21.4
61.6.20	嘉南8號	C_8—6—17	168	104	25.0—80.4	55.6
61.6.20	嘉南8號	C_8—6—23	202	131	25.9—96.3	62.7
61.6.20	嘉南8號	C_5—4—23	382	203	31.6—60.7	48.7
61.6.23	嘉南8號	C_8—6—16	175	51	27.4—32.4	29.9
61.6.23	嘉南8號	C_8—6—17	72	59	81.9	81.9
61.6.24	嘉南8號	C_8—6—22	503	137	17.3—44.5	27.4
總計(Total)			3,032	1,297	0—96.3	42.8

表 3. 改良式水稻雜交法之結實率

Table 3. Mass pollination in clipping glumes of rice emasculated by hot water (Modified method)

雜交日期 Date	親本名稱 Name of parents 母本 Female	父本 Male	授粉小花數 No. of pollinated florets	結實粒數 No. of grains obtained	結實率 % of seed set 範圍 Range	平均 Mean
61.6.19	臺南5號	C_5—4—17	52	46	88.5	88.5
61.6.19	臺南5號	C_5—4—22	76	42	55.3	55.3
61.6.19	臺南5號	C_5—4—22	44	33	75.0	75.0
61.6.23	臺南5號	C_5—4—17	375	308	80.4—83.5	81.7
61.6.24	臺南5號	C_5—4—23	155	82	50.4—67.9	59.2
61.6.19	嘉南8號	C_8—6—13	171	122	60.4—85.3	72.9
61.6.19	嘉南8號	C_8—6—16	159	115	58.3—78.2	70.0
61.6.20	嘉南8號	C_8—6—23	273	211	73.5—94.0	83.8
61.6.23	嘉南8號	C_8—6—12	305	240	76.2—81.3	78.9
61.6.23	嘉南8號	C_8—6—17	280	222	68.3—90.7	79.7
61.6.24	嘉南8號	C_8—6—16	160	142	85.0—96.2	90.6
61.6.24	嘉南8號	C_8—6—17	207	137	63.3—84.2	69.4
總計(Total)			2,257	1,700	50.4—96.2	75.32

表 4. 比較改良法與渡邊忠夫法之水稻雜交結實率

Table 4. The percentages of seed set of rice by Watanabe's method in comparison with the modified method

雜交日期 Date	親本名稱 Name of parents 母本 Female	父本 Male	雜交法 Method	授粉小花數 No. of pollinated florets	結實粒數 No. of grains obtained	結實率% of seed set 範圍 Range	平均 Mean
61.6.19	嘉南8號	C_8—6—13	渡邊忠夫法 Watanabe's	390	86	0—49.4	21.4
61.6.19	嘉南8號	C_8—6—13	改良法 Modified	171	122	60.4—85.3	72.9
61.6.20	嘉南8號	C_8—6—23	渡邊忠夫法 Watanabe's	202	131	25.9—96.3	62.7
61.6.20	嘉南8號	C_8—6—23	改良法 Modified	50	47	94.0	94.0
61.6.24	臺南5號	C_5—4—23	渡邊忠夫法 Watanabe's	64	13	20.3	20.3
61.6.24	臺南5號	C_5—4—23	改良法 Modified	155	82	50.4—67.9	59.2

引用文獻

1. Hoshino, Y. (1915) : On the inheritance of flowering time in peas and rice. Jour. Col. Agri., Tohoku Imp. Univ. 6 : 229—288.
2. IRRI (1963) : Breeding methods and techniques. IRRI Annual Report (1963), pp. 18—19.
3. IRRI (1964) : Breeding methods and techniques. IRRI Annual Report (1964), pp. 20—25.
4. Jodon, N. E. (1938) : Experiments on artificial hybridization of rice. Agron. J. 30 : 294—305.
5. Jones, J. W. (1929) : Technic of rice hybridization in California. Agron. J. 21 : 35—40.
6. Kamo, I. (1940) : A contribution to the knowledge of blooming in rice flowers. Taiwan Government Agri. Res. Inst. Report No. 75.
7. Ramiah, K. (1927) : Artificial hybridization in rice. Agri. J. India 22 : 17.
8. Sharngapani, S. G. (1924) : A few observations on paddy (*Oryza sativa*) crossing. Agri. J. India 19 : 48—50.
9. Stephens, J. C. and Quinby, J. R. (1933) : Bulk emasculation of sorghum flowers. Agron. J. 25 : 233—234.
10. 渡邊忠夫 (1951) ：水稻交配新法，臺灣農林 5 (11) ：23—25。

MODIFIED TECHNIQUES OF RICE HYBRIDIZATION

BY

Y. C. Teng and T. H. Hsu

Summary

The various techniques of artificial hybridization in rice have been reviewed. Each, however, is unsatisfactory for the large numbers of hybridizations required for back—cross breeding and certain special studies. A modified Watanabe's method has been developed. The florets are emasculated by hot water method in the morning, and will be clipped off $\frac{1}{5}$ of upper part of the glumes, if the florets closed before pollination, in order to allow the pollen to go into the glumes by shaking panicles of the pollen parent over the clipped florets (Mass pollination). The results showed that the modified method increased the percentage of seed set from 43% to 75%, in comparison with the modified clipping method developed by The International Rice Research Institute. The Watanabe's method gave a wide range of percentages of seed set in the experiments. The percentage of seed set is high, if pollination can be done before the florets closing. On the contrary, if the anthers of the pollen plant mature after the florets closing, the percentage of seed set will be very low, sometimes, no grain can be obtained. The modified method, however, maintained higher and stable percentage of seed set by comparison, especially under the poor weather condition.

---

* Serial No. (Q) 593

* Associate Agronomist and Junior Agronomist of Taiwan Agricultural Research Institute, respectively.